Aus der I. Medizinischen Klinik der Charité Berlin
(Stellvertr. Dir.: Prof. Dr. Schilling)

Blutgruppenbestimmungen bei Blutkrankheiten

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der

Medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

vorgelegt von

Wolfgang Zündel
aus Waldenburg (Wrttbg.)

Tag der Promotion: 30. 9. 1933.

Druck von Gebrüder Hoffmann, Charlottenburg, Schillerstr. 44.

2

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Gocht

Referenten: Prof. Dr. V. Schilling
Prof. Dr. v. Bergmann

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Einleitung.

Im Anschluß an die bei Bluttransfusionen sowohl von Mensch auf Mensch wie von Tier auf Mensch gemachten Beobachtungen wurde schon im letzten Jahrhundert auf die Anwesenheit von Isoagglutininen und Isohaemolysinen in Plasma und Serum geschlossen. Die beobachteten Schockwirkungen wurden aber entsprechend der Tatsache, daß sie nur an schwerkranken Menschen, welchen als Ultima-ratio eine Transfusion helfen sollte, beobachtet wurden, zuerst fälschlicherweise als Folge einer pathologischen Blutveränderung gedeutet. Erst durch die systematischen Untersuchungen von Landsteiner im Jahre 1901 wurde die theoretische Grundlage zu der heute schon als eigene Wissenschaft dastehenden Lehre von den Blutgruppen gelegt.

Lange schon bevor die wissenschaftlichen Disziplinen der Anthropologie, Erbwissenschaft und Serologie sich dieses Gebietes bemächtigten, wurde von Criel und Ottenberg rückläufig die ausschlaggebende Bedeutung dieser Entdeckung für die Transfusionstechnik erkannt und ausgebaut. Damit war die erste und auch heute noch wichtigste Anwendung der Blutgruppenbestimmung für die Praxis gegeben, und zwang den Praktiker, sich mit ihr zu beschäftigen. Wenn es auch heute noch nicht möglich ist, einwandfrei zu entscheiden, wieviele der in der Literatur beschriebenen und auch heute noch beobachteten Transfusionsschädigungen der Unverträglichkeit durch Isoagglutitation, wieviele der Transfusionstechnik und wieviele anderen zum Teil schon bekannten serologischen Momenten zur Last fallen, so wird doch auf Grund zahlreicher Statistiken eine Transfusion ohne vorherige Gruppenprüfung als Kunstfehler betrachtet.

Die intensive Beschäftigung mit den Blutgruppenreaktionen förderte neben zahlreichen wissenschaftlichen Ergebnissen ebensoviele die eigentliche Reaktion störende oder überlagernde Fehlermöglichkeiten zu Tage, ohne deren Kenntnis und Ausschaltung eine einwandfreie Gruppenbestimmung nicht möglich ist. Von mehre-

ren Autoren wurden deshalb Bestimmungen über die Ausführung der Blutgruppenreaktion ausgearbeitet, von welchen leider bis jetzt noch keine allgemein anerkannt und im Gebrauch ist. So sieht sich der Praktiker zur Ausführung einer ihm evtl. fremden Reaktion gezwungen, für welche es aber noch keine allgemein anerkannte Gebrauchsanweisung gibt. Die Folge davon ist, daß er der rein technischen Ausführung keine allzu große Bedeutung zumißt, die Reaktion nach eigenem Gutdünken ansetzt und dabei zahlreichen Irrtümern zum Opfer fällt. Ein großer Fortschritt wurde durch die Möglichkeit, geprüfte Sera käuflich zu erwerben (Haemotest Böhringer), sowie durch die Vereinheitlichung der Gruppenbezeichnung durch die Hygiene-Kommission des Völkerbundes gebracht.

Die folgende Arbeit soll einen Beitrag liefern zur Kenntnis der Fehlerquellen bei Blutgruppenreaktionen und zur Verbreitung einer entsprechenden allgemein gültigen Technik. Die Gruppenuntersuchungen wurden zum größten Teil durchgeführt bei Krankheiten, welche das Blut primär oder sekundär in Mitleidenschaft ziehen. Dieser Wahl lag einmal die Frage zu Grunde, ob die Blutgruppeneigenschaft irgend welche Beziehungen zu bestimmten Blutkrankheiten hat, in der Hauptsache aber war es das praktische klinische Interesse an einer einwandfreien Gruppenbestimmung, da ja diese Krankheiten zum großen Teil (Leukämie, Perniciosa, Haemophilie, Chlorose, Häm. Ikterus) die Indikation zu einer Transfusion geben.

A. Allgemeine Technik.

1. Objektträgermethode, nach Moss-Lee-Vincent.

Um die durchschnittliche prozentuale Blutgruppenzusammensetzung der die Klinik besuchenden Patienten zu ermitteln und damit einen Vergleich mit den bei einzelnen Blutkrankheiten gefundenen Werte zu haben, wurde erst eine größere Anzahl von Patienten ohne Rücksicht auf ihre Erkrankung untersucht. Diese Gruppenbestimmungen wurden dazu benutzt um einen Ueberblick über die Zuverlässigkeit der heute noch sehr häufig angewandten Objektträgermethode nach Moss-Lee-Vincent zu gewinnen.

Technik: Das Blut wurde frisch aus dem Ohr entnommen und durch Vermischung mit physiologischer Kochsalzlösung eine 5 %ige Aufschwemmung bereitet. Die Konzentration dieser Aufschwemmung wurde nach einer Standard-Aufschwemmung abgeschätzt. Ein bis zwei Tropfen davon werden mit einem Tropfen sterilen, höchstens 8 Tage alten, nicht vorbehandelten, aber auf normalen Titer geprüften Test-Serum A und B zusammengebracht und gut verrührt oder geschwenkt.

Nach dieser Technik konnten aus dem Material der I. Med. Poliklinik 198 Personen untersucht werden.

Steht auch das Serum der fraglichen Blutprobe zur Verfügung, so wird als Gegenprobe ein Tropfen desselben mit ein bis zwei Tropfen einer nach obigen Angaben hergestellten Zitrataufschwemmung bekannter gut reagierender Ery. der Gruppe A und B zusammengebracht. Nach dieser Technik, also Untersuchung der Gruppengemeinschaft in Serum und Ery., konnten aus dem Material der I. Med. Poliklinik und Klinik weitere 373 Patienten untersucht werden. Viermal mußte dabei zur endgültigen Feststellung der Gruppe die später dargelegte, von Schiff angegebene Reagensglasmethode herangezogen werden.

Gruppe:		O	A	B	AB	zus.
I. Untersuchung der Ery.	Zahl:	72	91	22	13	198
	%	36,4	45,9	11,1	6,6	100
II. Untersuchung von Ery. u. Serum	Zahl:	149	156	48	20	373
	%	39,9	41,8	12,9	5,4	100
Zusammen:	Zahl:	221	247	70	33	571
	%	38,7	43,2	12,3	5,8	100

Bei der Beurteilung des Ergebnisse muß bedacht werden, daß die Zahlen relativ klein sind. Der Vergleich der entsprechenden Gruppen in Reihe I und II zeigt in der oberen Reihe, also bei denjenigen Untersuchungen, die ohne Serumkontrolle ausgeführt wurden, eine beträchtliche Häufung in der Gruppe A auf Kosten der Gruppe O. Man könnte für diese Erscheinung an folgende Erklärungsmöglichkeit denken: Durch die später beschriebenen irrtümlichen positiven Ablesungen sind bei der Ery.-Prüfung ohne Serumkontrolle einige Blutproben der Gruppe O fälschlicherweise in die übrigen Gruppen aufgenommen worden. Im Einklang mit dieser Annahme steht die ebenfalls vorhandene Häufung in der Gruppe A und AB der Reihe I. Dagegen sprechen die Zahlen in Gruppe B, wenn nicht eine spezielle Neigung zur Bildung von Pseudagglutination gegenüber Serum B angenommen werden soll. was nach bisherigen Veröffentlichungen aber unwahrscheinlich ist; außerdem scheiden die Reihen der Gruppe B und AB bei derartigen Vergleichen infolge ihrer kleinen Zahl ziemlich aus.

An Fehlerquellen wurde beobachtet:

Verzögerter Reaktionseintritt. Bei gutem Umrühren ist jedoch nach 10 bis 15 Minuten kein Auftreten spezifischer Reaktionen mehr zu erwarten; dagegen wird durch das allmähliche Eintrocknen wie auch durch allzulanges Verweilen in einer feuchten Kammer die Bildung von unspezifischen Ballungen nur begünstigt.

Pseudagglutinationen, eine wolkige, lockere, durch Schütteln oder Deckglasauflegen meist zerstörbare Ballung von Ery., welche

relativ oft eintritt. Bei einiger Erfahrung und mikroskopischer Betrachtung werden diese Ballungen meist als nicht spezifisch erkannt. Sie treten entweder sofort ein oder erst bei allmählicher Eintrocknung; die Ausbildung ersterer wird nicht immer durch das Lattes'sche Lecithinsol verhindert, die Ballungen durch Eintrocknen werden meist durch weiteren Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung und wahrscheinlich durch die damit verbundene mechanische Erschütterung rückgängig gemacht. Mehreremale wurden diese Ballungen beobachtet bei Patienten, die mit Farbstoffen (Fluorescin, Trypanrot) i. v. behandelt waren. Ein Zusammenhang mit bestimmten Krankheiten wurde nicht beobachtet.

Geldrollenbildung. Sie ist meist in eintrocknenden Randzonen zu finden und mikroskopisch leicht kenntlich. Wichtig ist, daß sie auch zusammen mit schwachen spezifischen Ballungen beobachtet wurde. Hier läßt die mikroskopische Unterscheidung im Stich, besonders wenn die Geldrollenbildung trotz Zuhilfenahme einer feuchten Kammer eintritt. Gelegentlich wurden auch Ballungen beobachtet, welche makroskopisch und mikroskopisch von einer echten Isoagglutination nicht mit Sicherheit unterschieden werden konnten; die einzelnen Ery.-Haufen bestanden hierbei meist nur aus wenigen Zellen, doch ließen sich bei Durchsicht mehrerer Gesichtsfelder immer einzelne typische Geldrollen finden, welche den wahren Charakter der Ballung offenbarten. Eine einwandfreie Unterscheidung läßt sich hierbei mit der Objektträgermethode nicht treffen. Bei weiterer Untersuchung solcher Sera fanden sich einige Male Kälte-Agglutinine mit relativ hohem Titer (1/8).

Wurden bakteriell verunreinigte, ältere Blutproben untersucht, so konnte einigemale nach längerem Einwirken auf die frische Ery-Aufschwemmung eine wahrscheinlich chemotaktisch bedingte Ballung der Leukocyten unter Einschluß einiger Ery. eine schwache Ballung vortäuschen. Durch Färbung konnten die Bakterien dargestellt werden.

2. Die Technik nach Schiff:

In Uhlenhut'schen Gläschen werden 2 Tropfen Ery.-freies Serum mit 2 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung und mit 2 Tropfen einer 5 %igen Aufschwemmung der vom Blutkuchen abgeschüttelten Ery. zusammengebracht. Zum Abschätzen der Kon-

zentration diente wieder eine Standardaufschwemmung; etwaige Differenzen durch einen veränderten Färbeindex wurden nicht berücksichtigt. Nach kräftigem Aufschütteln wird bei geringer Umdrehungszahl 5 Minuten zentrifugiert und sofort abgelesen.

3. Zur weiteren Prüfung der Genauigkeit der einzelnen Untersuchungsmethoden wurden etwa 500 Blutproben sowohl nach Objektträgermethode mit Prüfung auf Rezeptoren und Agglutinine wie nach Schiff untersucht. Zur Verwendung kamen die Reste der zur Wassermann'schen Reaktion eingegangenen Blutproben einiger Universitätsinstitute (keine Kinderklinik), also Blutproben, für deren sterile Entnahme und sachgemäße Weiterbehandlung einige Gewähr besteht,. welche aber doch 3—6 Tage alt waren und davon längere Zeit in Zimmertemperatur zugebracht haben. Bei der Untersuchung solcher Blutproben ist also entsprechend den bisherigen Literaturberichten ein ungleichmäßig häufigeres Auftreten von Störungen und Fehlerquellen zu erwarten, als bei frisch entnommenem Blut und zwar ist neben den oben beschriebenen unspezifischen Ballungen auch sehr stark mit einem vermehrten Ausbleiben zu erwartender Reaktionen durch Verluste der spezifischen Eigenschaften zu rechnen, eine Fehlerquelle, die sich hauptsächlich bei der Untersuchung der Ery. geltend machen muß, da die Rezeptoren viel leichter zerstörbar sind, als die Agglutinine. Eine Abnahme der Fähigkeit zur Pseudoagglutination und Geldrollenbildung beim Serum älterer Blutproben wurde nicht beobachtet, eher das Gegenteil.

Die einzelnen Reaktionen zur Untersuchung auf Ery.-Eigenschaften und Serum-Eigenschaften wurden sowohl auf dem Objektträger wie im Uhlenhut-Glas unabhängig voneinander mikroskopisch beurteilt und aufgeschrieben. Anschließend wurden die zusammengehörigen Objektträgerreaktionen und die zusammengehörigen Reaktionen nach Schiff je gemeinsam beurteilt und ebenfalls aufgeschrieben.

Untersuchungsmethode	Fehlbestimmungen durch		zus.
	Unspez. + Ballungen	Fehlende spez Ballungen	
I. Objektträger.			
a) Beurteilung der Ery.-Untersuch.	3,5 %	1,5 %	5,0 %
b) Beurteilung der Serum-Unters.	2,6 %	1,0 %	3,6 %
c) Beurteilung der Ery. + Serum-Untersuchungen			1,8 %
II. Schiff'sche Methode			
a) Beurteilung der Ery.-Untersuch.	—	0,4 %	0,4 %
b) Beurteilung der Serum-Unters.	—	0,2 %	0,2 %
c) Beurteilung der Ery. + Serum-Uutersuchungen			0,2 %

Es zeigt sich also, daß bei einer vollständigen Objektträger-Untersuchung immer noch in 1,8 % der Fälle eine Fehlbestimmung unterlaufen ist. Werden nur die Eigenschaften des Serums oder der Ery. untersucht, so ist die Anzahl der Fehler weit größer gewesen, da viele, oft nur mikroskopisch sichtbare Ballungen per exclusionen als spezifisch erkannt oder als unspezifisch abgelehnt werden können. Die bei der Schiff'schen Technik unterlaufenen drei Fehlbestimmungen setzen sich zusammen aus einer sekundären Anaemie mit sehr niedrigem Serumtiter ($^1/_1$—$^1/_2$) und einer sekundären Anaemie mit sehr unempfindlichen Ery., welche nur auf gutes Serum in konzentrierter Form ansprachen. Ueber den dritten Patienten ist nichts bekannt.

In allen Fällen aber konnte durch Verwendung von gutem Serum in konzentrierter Form nach der Schiff'schen Technik eine eindeutige Gruppenbestimmung demonstriert werden. Auffallend ist das weit häufigere Auftreten von unspezifischen Ballungen

gegenüber dem Fehlen spezifischer Ballungen. Damit ist auch die große Ungenauigkeit bei der alleinigen Untersuchung auf Ery. Eigenschaften gegeben, also die Bedeutung, die in der Praxis am meisten geübt wird.

Selbst aber wenn ganz frische Ery. untersucht werden, und damit die durch Rezeptoren-Zerstörung älterer Ery-Proben eintretende Fehlerquelle fortfällt, ist trotz des äußerst selten vorkommenden echten Fehlens einer zu fordernden Rezeptoren-Eigenschaft im frischen Serum nur das kleinere Uebel vermieden: das Auftreten der unspezifischen oben geschilderten Ballungen ist zwar bei frischen Ery.-Proben wesentlich seltener, aber doch keineswegs zu vernachlässigen, wie sich in der ersten Untersuchungsreihe mit frischen Blutproben deutlich zeigte.

4. Technik der Titerbestimmungen. In denselben Uhlenhutschen Gläschen wurden durch Tropfenabzählung die Serumverdünnungen 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 hergestellt. Die Verdünnung 1/64 wurde hergestellt durch Vermischen von 0,3 ccm der Verdünnung 1/32 mit derselben Menge physiologischer Kochsalzlösung. Die weiteren Verdünnungen erhält man durch Fortsetzungen dieser Mischungen. In den durch Tropfenmischung hergestellten Verdünnungen wurde ebenfalls nur mit 0,3 ccm Flüssigkeit gearbeitet. Durch Zusatz gleicher Mengen relativ stark konzentrierter Ery.-Aufschwemmung zu den einzelnen Gläschen läßt sich leicht in denselben eine Aufschwemmung von 2—3 % herstellen.

5. Die in den einzelnen Gläschen durch den Zusatz der Ery.-Aufschwemmung hervorgerufene Aenderung der Serum-Konzentration ist selbst wenn sie größere Grade erreichen würde, ohne Einfluß auf das Resultat, denn es kommt nur auf die absolute Menge des anwesenden Serums und die Zahl der Ery. nicht aber auf den Grad der Verdünnung an. Dies konnte in folgender Versuchsreihe gezeigt werden:

Von einem beliebigen Serum der Gruppe A mit dem Titer 1024 wurden möglichst exakt hergestellte Verdünnungsreihen bis zu einer Konzentration von 1/8192 gewonnen. Jedes Gläschen enthielt nach Fertigstellung der Verdünnungen einen ccm Flüssig-

keit. Jede Verdünnungsreihe wurde nun mit einer bestimmten Menge einer ausgezählten Ery.-Aufschwemmung der Gruppe B beschickt. In Versuchsreihe 1 wurden z .B. in jedes Gläschen 305 Millionen Ery. gebracht, in Versuchsreihe 2 122 Millionen. Die Versuche blieben 12 Stunden im Eisschrank stehen und wurden in dieser Zeit mehreremals aufgeschüttelt, so daß sicher optimale Mischungs- und Absorptionsverhältnisse vorlagen. Die Titerwerte wurden durch mikroskopische Kontrolle von aus den leicht aufgeschüttelten Gläschen entnommenen Tropfen bestimmt.

Mit Hilfe des erhaltenen Titers läßt sich leicht berechnen, wieviele Ery. pro ccm Serum im betreffenden Falle maximal kommen dürfen, um noch eine Ballung auf gruppenspezifischer Grundlage zu erhalten. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Reihe	Ery.-Zahl	Titer	Ery. pro ccm Serum	Ery.-Aufschwemmung in %
1	305 M.	265	78080	5,13
2	122 M.	1024	124928	2,27
3	61 M.	2048	124928	1,17
4	30,5 M.	4096	124928	0,60
5	15,25 M.	4096	62464	0,30
6	6,1 M.	4096	24958	0,12

Die Ery.-Aufschwemmung in Prozenten wurde unter der Annahme erhalten, als ob 5 Millionen der gebrauchten Ery. einem cmm Frischblut entsprächen. Die Reihen 2—4 zeigen eine bemerkenswerte Uebereinstimmung der Resultate. Die Differenz in Reihe 1 liegt bei der vorliegenden Aufschwemmungskonzentration, welche für makroskopische Ablesung schon zu konzentriert ist, wohl innerhalb der Fehlergrenze. Das graduelle Absinken der Ery.-Ballungsfähigkeit in Reihe 5 und 6 kann evtl. durch die bei so hohen Verdünnungen sich immer mehr summierenden Mischungsfehler erklärt werden. Viel glaubwürdiger scheint aber die Annahme, daß bei so geringen Ery.-Aufschwemmungen in ebenso geringer Serumkonzentration trotz häufigen Aufschüttelns die gegenseitige Berührungs- und Absorptionsmöglichkeit nicht groß genug war. Reihe 6 ließ sich makroskopisch nicht mehr einwand-

frei ablesen. Die Versuchsanordnung der Schiff'schen Technik liegt nach obigen Befunden sowohl in Bezug auf die Konzentration der Ery., welche zu einer makroskopischen leichten Ablesung nötig ist, wie auf das optimale Absorptionsverhältnis von Ery. und Serum innerhalb der brauchbaren Grenze.

Die verwendeten Blutproben wurden zum größten Teil mit Kanüle oder Spritze aus der Vene entnommen und sofort zur Gerinnung in den Brutschrank gestellt. In einigen wenigen Fällen wurde Zitratblut benutzt, welches nach eigenen Vergleichsbestimmungen die Blutgruppeneigenschaft unbeeinflußt läßt. Die durch das Na. citric. verursachte Serum-Verdünnung wurde bei der Titerbestimmung eingerechnet. 3 beliebige Blutproben, bei welchen sowohl Serum wie Zitratplasma zur Verfügung stand, ergaben bei der Titerbestimmung nach obiger Technik folgende Werte:

Normales Serum:	1/64	1/256	1/128
Zitratplasma:	1/64	1/128	1/64

Es kann also durchschnittlich bei der Umrechnung von Zitratplasma auf Serum die nächst niedere Konzentration angeschrieben werden.

Da es aus technischen Gründen nicht möglich war, mehrere Gläschen zugleich zu zentrifugieren, wurden bei der großen Anzahl der angesetzten Reaktionen die Stative mit den Gläschen nach gründlichem Durchschütteln mehrere Stunden (mindestens 4) bei Eisschranktemperatur aufbewahrt, dann aufgeschüttelt und abgelesen. Bei Verwendung von Zitratplasma konnte auf das Zentrifugieren nicht verzichtet werden da sonst bei den niederen Konzentrationen ein nachträgliches Gerinnen des Fibrins eintritt, wodurch das Ablesen der Reaktion unmöglich gemacht wird. Nur wenn die Ballung der Ery. vor der Gerinnung des Fibrins eintritt, sind die Ery.-Haufen in dem Fibringerinsel deutlich sichtbar.

Die Testery. wurde von 2 immer zur Verfügung stehenden Personen (Frl. O., Herr Z.) jeweils frisch aus dem Ohr entnommen und in der von Rous und Robertson angegebenen Traubenzuckerlösung aufbewahrt.

B. Blutkrankheiten.

Die Gruppenbestimmung bei Blutkrankheiten erfolgte erst nach der Objektträgermethode. Waren die so erhaltenen Werte nicht absolut eindeutig, so wurde nach der Schiffschen Technik untersucht, welche immer eindeutige Reaktionen lieferte.

Die Untersuchungen wurden nach der oben angegebenen Technik durchgeführt. Die Test-Erytrozyten der Gruppe A konnten durchweg von derselben Person genommen werden, die Test-Erytrocyten der Gruppe B stammten von 3 verschiedenen Spendern. Die Sera dieser Spender zeigten gegen die Test Erytrozyten A Titerwerte von 1/64 und 1/128. In denselben Grenzen bewegten sich die Titerwerte des Serums der Blutgruppe A gegen die Erytrozyten der drei Test-Erytrozyten B. Die untersuchten Patienten lagen zum größten Teil in der 1. medizinischen Klinik der Charité und waren durchweg über 18 Jahre alt.

	Zahl	0	A	B	AB
Myeloische Leukämie	10	2	5	3	0
Aleukie	2	0	1	0	1
Lymphatische Leukämie	2	0	1	1	0
Perniciosa	17	6	7	3	1
Polycythämia vera	6	3	1	1	1
Polycythämia sec.	3	2	1	0	0
Lymphogranulom	6	1	3	2	0
Chlorose	2	0	1	0	1
Hämol. Ikterus	2	0	1	0	1
Hämophilie	2	1	0	0	1
Sec. Anämie	6	3	2	1	0
Ikterus	5	1	4	0	0
Zusammen	63	19	27	11	6
In %		30,1	42,9	17,5	9,5

Es zeigt sich also, daß, soweit die Anzahl der Untersuchungen das zuläßt, weder in den einzelnen Spalten noch in der Gesamtzusammenstellung bemerkenswerte Abweichungen von der üblichen Gruppenzusammensetzung bestehen. Auch die bisher zum Zwecke der Transfusion in der Klinik durchgeführten Blutgruppen-

bestimmungen zeigen für die hier in Betracht kommenden Krankheiten, also hauptsächlich Leukämie, Perniciosa und Anämien jeder Art keine besonderen prozentualen Zusammenstellungen.

2. Leukämien (siehe Tabelle).

Bei einem Teil der in der Tabelle angeführten Blutproben konnten neben der Titerbestimmung auch die Ery. gegen ein bekanntes Test-Serum ausgewertet werden. Die erhaltenen Titerwerte liegen im allgemeinen etwas niedriger als diejenigen von Vergleichseryproben, jedoch sind die Resultate nicht eindeutig. Die Ery. von Nr. 5 zeigen gegen ein Serum mit dem Titer 128 nur einen solchen von 16, während die chronische Leukämie Nr. 9 normale Werte zeigte. Nr. 14 ergab gegen ein Serum 64 für A: 32, für B: 64.

Das Ergebnis der Titerbestimmung wurde makroskopisch und mikroskopisch abgelesen. Beide Resultate sind angegeben.

	Klinisch	Gegen A.	Gegen B.	Gruppe
1. Myel. L.	Unbestrahlt schlechter Allg.-Zust.		8/16	2
2. Myel. L.	Akute Ausschwemmung Corpunktion 3 St. p. mort.		4/8	2
3. Myel. L.	Akute Ausschwemmung Corpunktion 8 St. p. mort.		16/16	2
4. Myel. L.	Bestrahlt ungebessert	32/32	8/8	2
5. Myel. L.	Bestrahlt gebessert	32/32		3
6. Myel. L.	Bestrahlt gebessert	16/16		3
7. Myel. L.	Bestrahlt gebessert	256/512		3
8. Myel. L.	Bestrahlt gebessert	512/512	64/128	1
9. Myel. L.	Chronische L. bestrahlt gebessert		128/256	2
10. Myel. L.	Ueberbestrahlt kurz ante exitum.	128/256	32/64	1
11. Lymph. L.	Unbestrahlt chron.		64/128	2
12. Lymph. L.	Bestrahlt chron.	64/128		3
13. Aleukie	Schlechter Allg. Zust.		8/16	2
14. Aleukie	Schlechter Allg. Zust.			4

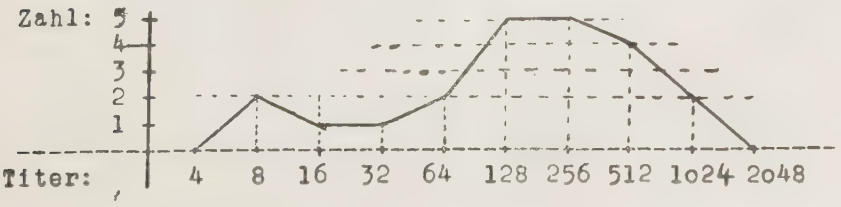
Bei der obigen Tabelle wurde besonders darauf geachtet, ob die Patienten mit Röntgenstrahlen vorbehandelt waren und welchen

klinischen Befund sie darboten. Unter den als bestrahlt bezeichneten Patienten wurden sowohl diejenigen, die früher bestrahlt worden waren, wie auch solche, die z. Zt. der Blutentnahme in Strahlenbehandlung standen, zusammengefaßt.

Wie die Resultate zeigen, fällt bei relativ vielen Leukämien die stark verminderte Agglutinationskraft des Serums sowohl gegenüber A wie B auf. Wenn auch bei den aus der Leiche entnommenen Blutproben 2 und 3 Veränderungen der Titerstärke auf postmortale Veränderungen des Blutes zurückgeführt werden könnten, was aber bei der frühen Entnahme p. m. unwahrscheinlich ist, so zeigen doch noch viele der restlichen Blutproben z. T. stark verminderte Werte. Eine Verminderung der agglutinablen Fähigkeit bis zu einem Titer 1/2, wie Schiff das beschreibt, wurde nicht beobachtet, was vielleicht mit der Verwendung nur frisch entnommenen Blutes zusammenhängt.

Die myeloischen Blutproben mit hoher Titerstärke Nr. 7—9 entfallen alle auf bestrahlte und klinisch weitgehend gebesserte Krankheitsformen. Man könnte also annehmen, daß durch die Bestrahlung eher eine Steigerung als eine Schwächung der Agglutinationskraft erreicht wird, was durch Fall 10 bestätigt würde, welcher kurz nach Bestrahlung an einem Leukozytensturz starb und Titerwerte bis zu 256 kurz ante mortem zeigte. Soweit bei dem vorliegenden Material Bestrahlung nicht in Betracht kommt, zeigt die Höhe des Agglutinin-Titers einige Uebereinstimmungen mit dem klinischen Zustand, was besonders durch die beiden Fälle 1 und 11 demonstriert wird. Auch die Fälle 2, 3, und 13 zeigen bei klinisch schlechten Zustand sehr geringe Titerwerte. Der Titer der beiden lymphatischen Leukämien liegt an der unteren Grenze des Normalen; die Erythrozyten dieser beiden Blutproben zeigen normale Empfindlichkeit.

3. Anaemia perniciosa.



Bei Anaemia perniciosa ergab die Bestimmung der Titerstärke im Gesamtbild normale Werte. Obige Kurve wurde erhalten durch Zusammenstellung aller bei makroskopischer Ablesung erhaltenen Titerwerte und zeigt große Aehnlichkeit mit der von Schiff veröffentlichten Normalkurve. Eine Beziehung zwischen Röntgenbestrahlung und Titerstärke, sowie klinischem Zustand und Titerstärke konnte bei vorliegendem Material nicht festgestellt werden.

4. Restliche Untersuchungen.

Titer		8	16	32	64	128	256	512	1024	2038
Polycythämia vera	anti B	—	1	2	—	—	—	1	—	—
	anti A	—	—	—	—	2	—	1	1	—
Polycythämia sec.	anti B	1	—	—	1	—	—	1	—	—
	anti A	—	—	—	—	—	1	1	—	—
Lymphogranulom	anti B	—	—	1	1	—	1	—	1	—
	anti A	—	—	—	1	—	—	1	—	—
Hämol. Ikterus	anti B	—	—	1	—	—	—	—	—	—
	anti A	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hämophilie	anti B	—	—	—	—	—	1	—	—	—
	anti A	—	—	—	—	—	1	—	—	—
Sec. Anämie	anti B	—	—	1	2	1	1	—	—	—
	anti A	—	—	1	1	1	—	—	—	1
Ikterus	anti B	—	—	2	—	—	2	1	—	—
	anti A	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Chlorose	anti B	—	1	—	—	—	—	—	—	—
	anti A	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Auch aus obiger Tabelle lassen sich für die angeführten Krankheiten keine besonderen Titeränderungen ablesen. Bemerkenswert ist der niedere Titer bei der Chlorose, deren Ery. ebenso wie die der Chlorose mit der Gruppe 4 normale Empfindlichkeit zeigten.

5. Verhältnis von Agglutinin A und B.

Schiff beobachtete, daß bei seinen Untersuchungen die Test-Ery. A durchschnittlich stärker agglutiniert wurden als die Test-Ery. B. Der durchschnittliche mikroskop. Titer bei den hier vorgenommenen Untersuchungen für die beiden Agglutinine ist:

für α: etwas über der Mitte zwischen 1/128 und 1/256,

für β: wenig über 1/64.

Das Resultat stimmt also mit der von Schiff gemachten Beobachtung überein. Auf eine allgemeine stärkere Ausbildung des Agglutinins α darf aber aus diesen beiden parallelen Untersuchungs-

reihen noch nicht geschlossen werden, da die Möglichkeit verschieden empfindlicher Test.-Ery. auch hier besteht. Nur noch weitere Beobachtungsreihen können diese Frage entscheiden.

D. Kälteagglutinine, Autagglutinine.

Die Fähigkeit eines Serums, fremde gruppengleiche oder nach den Blutgruppenregeln nicht agglutinierbare Ery. zu ballen, nennt man Kälte-Agglutination (Panagglutination). Nach zahlreichen Untersuchungen besitzen etwa $^1/_3$ aller Sera praktisch diese Fähigkeit, jedoch nur bei Temperaturen von wenigen Graden über 0. In ganz geringer Ausbildung kommt diese Fähigkeit vielleicht jedem Serum zu und nur die Versuchsbedingungen entscheiden, wie groß der erhaltene %wert ausfällt. (Landsteiner und Levine gaben 3 % an). Je tiefer man die Reaktionstemperatur wählt, desto mehr tritt die Kälteagglutination in den Vordergrund, während die Isoagglutination in geringerem Grade schwächer wird. Hirszfeld führte für diese Temperaturgebundenheit den Begriff der Wärmeamplitude ein; er berichtet über eine solche bis 20° für Kälteagglutinine. Entsprechend diesen Beobachtungen schlägt Kettel-Karsten vor, bei Untersuchungen auf Kälteagglutinine das Serum bei 37° gerinnen zu lassen, um eine vorzeitige Bindung der absorptionsfähigen Kälteagglutinine zu vermeiden.

Hat ein Serum die Fähigkeit, seine eigenen Ery. zu ballen, so nennt man diesen Vorgang Autagglutination, die Fähigkeit eines Serums, zur Aut- und Kälteagglutination zugleich, nennt man Panagglutination, Begriffe, welchen wahrscheinlich dieselbe serologische Grundlage zukommt. Diese letzteren beiden Formen nicht spezifischer Ballungen sind im allgemeinen auf dieselbe Weise temperaturgebunden wie die Kälteagglutination.

Störender Einfluß auf eine Blutgruppen- oder Titerbestimmung dürfte Aut- und Kälteagglutininen mit einer Wärmeamplitude von 0—5° wohl niemals zukommen, denn selbst wenn die Reaktionen nicht nach der Technik von Schiff sofort zentrifugiert werden, sondern nach zweimaligem Aufschütteln im Eisschrank verbleiben und sich daselbst absetzen, was eine wesentliche Arbeitsersparnis bedeutet, so dürften sie doch dieselben Ergebnisse liefern, vorausgesetzt, daß keine Eindickungen durch Austrocknung eintritt, da beim Ablesen der Resultate in Zimmertemperatur die

reversible Kälteagglutination beim Aufschütteln ohne Bestand bleibt. Aber auch schon bei niederer Temperatur läßt sich eine Kälteagglutination von einer Isoagglutination bei den in Frage kommenden geringen Verdünnungen meist leicht an der kleineren zarten Ballung und der geringen Beständigkeit gegen mechanische Einflüsse unterscheiden.

Hier soll untersucht werden, inwieweit dem Serum von Blutkrankheiten die Fähigkeit der Aut- und Kälteagglutination mit über die Norm erhöhter und evtl. störend wirkender Wärmeamplitude zukommt. Es wurden nur Sera untersucht, welche sich ohne vorheriges Erkalten des Blutes bei 37° abgesetzt hatten. Als Reaktionstemperatur wurde die Eisschranktemperatur gewählt.

Gearbeitet wurde nach der von Schiff für die gewöhnliche Blutgruppenbestimmung angegebenen Technik. Die Prüfung auf Aut-Agglutinine geschah durch Zusatz der ebenfalls aus dem noch warmen Reagensglas entnommenen, vom Blutkuchen abgeschüttelten, eigenen Ery. Die Prüfung auf Kälteagglutinine durch Zusatz gruppengleicher fremder nie auf Eisschranktemperatur abgekühlter Ery, sowie im gegebenen Falle noch durch Zusatz von Ery der Gruppe 0. Für diese Untersuchungen konnten nur zum Teil dieselben Ery.-Spender herangezogen werden. Die Reaktionen wurden in den Verdünnungen 1 1 (conz.), 1 2, 1 4, 1:8, 1:16 angesetzt, blieben nach Aufschütteln mehrere Stunden im Eisschrank und wurden sofort nach dem Herausnehmen abgelesen.

Nach dieser Methode wurden untersucht:
Leukämie: 6, Perniciosa: 6, Lymphogranulom: 3, Haemophilie: 1, Polycytamie: 1, Tbc.-Anämie: 7, Endocarditis: 2, Chr. Sepsis: 2, sec. Anämie: 4.

An positiven Reaktionen wurde beobachtet:

	Aut-Agglutination	Kälte-Agglutination
1. Myel. Leucämie, stark bestr. ante Exit.	1/8	0
2. Aleucie	1/4	0
3. Lymphogranulom	1/8	1/2
4. Chronische Sepsis (Genital)	0	1/4
5. Postanginöse-Lenta-Endocarditis	1/32	1/8
6. Lenta-Endocarditis	1/16	1/2
7. Doppelseitige offene Lungen-Tbc.	1/4	1/4
8. Doppelseitige offene Lungen-Tbc.	1/8	0

Die obigen Resultate wurden durch mikroskopische Ablesungen gewonnen. Die makroskopisch sichtbaren Resultate liegen also meist bei der nächst höheren Konzentration und sind somit gegenüber den Titerwerten bei Isoagglutination sehr gering. Beachtet muß werden, daß fast jedes Serum in der Konzentration 1/1 mit beliebigen Ery. eine der Pseudagglutination vergleichbare, wolkenartige, leicht zerstörbare Ballung gibt, (besonders nach mehrstündigem Einwirken). Die bei einigen Fällen angesetzten Kontrollreaktionen mit demselben Blut, dessen Serum sich aber bei Zimmertemperatur abgesetzt hatte, ergaben einen etwas geringeren Titer. Läßt man die Probe im Eisschrank gerinnen, so tritt die Reaktion nicht mehr ein. Der Zusammenhalt der einzelnen Ery.-Haufen ist ein sehr verschiedener; meist genügt starkes Schütteln um die Reaktion zum Verschwinden zu bringen, was auch bei den ersten drei oben angeführten haematologischen Fällen zutraf.

Es hat also nur etwa $^1/_6$ aller untersuchten haematologischen Fälle deutlich positive Kälte- und Autagglutinationen ergeben. Die erhaltenen Titerwerte sind sehr niedrig. Von den restlichen untersuchten Fällen zeigten zwar einige noch Reaktionen in einer Verdünnung 1,2 und es wären vielleicht noch einige stärker positive Reaktionen aufgetreten, wenn jedes Serum gegen eine noch größere Anzahl von Ery.-Proben geprüft worden wäre. Das normale Vorkommen dieser Reaktionen wird aber von den hier untersuchten haematologischen Fällen weder quantitativ noch qualitativ überschritten. Auch die bei Sepsisfällen mitgeteilten und auch hier zum Teil erhaltenen Titerwerte wurden nicht annähernd erreicht. Man kann daraus entnehmen, daß bei Blutkrankheiten aus dem Auftreten von Kälte und Autagglutininen eine besondere Fehlerquelle für eine Gruppenbestimmung nicht entsteht. Also selbst wenn bei den gefundenen positiven Reaktionen die Bestimmung der Gruppe nach der Schiff'schen Reagensglasmethode bei Eisschranktemperatur vorgenommen worden wäre, so würden diese unspezifischen Ballungen durch das nachherige Aufschütteln wohl sicher zerstört worden sein. Mit der Stärke des Titers hängt die Festigkeit der einzelnen Ery-Haufen anscheinend nicht zusammen. Bei Nr. 7 z. B. konnten trotz des niederen Titers die einzelnen Ballungen selbst durch kräftiges Schütteln, Deckglasauflegen usw. nicht zerstört werden.

Ein einwandfrei panhämagglutinierendes Serum konnte nicht entdeckt werden, da bei allen Sera, bei welchen die Prüfung auf Kälteagglutinine gegen eine größere Anzahl von Ery.-Proben vorgenommen werden konnte, immer auch vollständig negative Reaktionen auftraten. Bei Serum 5 z .B. fand sich unter 10 Reaktionen eine negative. Auch Lattes teilt mit, daß echte Panagglutinine selten sind.

Ebenso konnte eine elektive Beeinflussung der Blutkörperchen einer bestimmten Gruppe durch das Kälteagglutinin eines Serums nicht festgestellt werden; im allgemeinen wurde beobachtet, daß die Agglutination gruppeneigener Ery. stärker ausfiel als diejenige verträglicher gruppenfremder Ery. Ebenso war die Agglutination gruppengleicher Ery. nur in einem Falle stärker als diejenige der eigenen Ery. (Autagglutination)

Zusammenfassung.

1. Bei den in der Hauptsache an Blutkrankheiten durchgeführten Gruppenuntersuchungen erwies sich die Schiff'sche Reagensglasprobe als stets einwandfrei arbeitend.

2. Ein Ueberwiegen einer Blutkrankheit in einer bestimmten Blutgruppe konnte nicht einwandfrei festgestellt werden.

3. In 50 % aller Leucämie-Sera sind beide Agglutinine gleichmäßig stark vermindert; (vielleicht auch bei Chlorosen). Normale Titerwerte fanden sich nur bei bestrahlten Patienten.

4. Aut- und Kälteagglutinine kommen bei Blutkrankheiten vor (M. Leucämie, Aleucie, Lymphogranulom), aber nicht in der Stärke, wie bei Infektionen. Eine Störung der Blutgruppenbestimmung ist nach der Schiff'schen Technik durch dieselben nicht zu erwarten.

5. Panagglutinine agglutinieren gruppenfremde Ery. im allgemeinen schwächer als gruppengleiche. Aut-Agglutinine sind im allgemeinen stärker als Kälteagglutinine.

6. Gegenüber den beliebig gewählten beiden Testery. erwies sich das Agglutinin α durchschnittlich stärker agglutinierend als das Agglutinin β.

7. 571 Gruppenbestimmungen ergaben folgende Zusammensetzung:

0: 38,7 % A: 43,2 % B: 12,3 % AB: 5,8 %

Es ist mir ein Bedürfnis an dieser Stelle Herrn Prof. V. Schilling für seine Anleitung und Unterstützung bei der Abfassung vorliegender Arbeit, sowie für die Ueberlassung zahlreichen Materials meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Literatur.

Schiff, F., Technik der Blutgruppenuntersuchung. Berlin, Springer 1929.

Lattes, L., Die Individualität des Blutes. Berlin, Springer 1925.

Schiff, F. u. Mendlowicz L., Zeitschr. f. Imm. 1926 Bd. 48.

Schiff F. u. Hübner G., Zeitschr. f. Imm. und exp. Therapie Bd. 45 S. 207.

Hirschfeld, Kl. Wschr. 1924 Nr. 26.

Prati, M., Zeitschr. f. Imm. 1928 Bd. 57.

Bernstein, F., Kl. Wschr. 1924.

Berliner, M., Fol. Hämat. 1929 Bd. 38.

Hirszfeld, L., Konstitutionsserologie und Blutgruppen-For- Berlin, Springer 1928.

Kettel-Karsten, C. r. Soc. Biol. 100, 1929.

Serebranikow P. W. u. Leitschik, Ukrainisches Zentr. Blatt für Blutgruppenforschung, Tom. III, Heft 1, p. 31.

Thomsen O., Ukr. Zentr. Bl. f. Blutgr.-Forschung. Tom. III, Heft 2, p. 103.

— Ztschr. f. Rassenphys. I, S. 198.

— Kl. Wschr. 1929 S. 1075.

— Heroditas 13, 1930, S. 121.

Landsteiner, K. u. Levine, Ph., J. of Immun. 18, 1930, S. 87.

Landsteiner, K., Science 1931, Vol. 73, p. 303.

Lebenslauf.

Unterzeichneter wurde am 14. 12. 1907 als zweiter Sohn des Pastors Wilhelm Zündel und seiner Ehefrau Hilda geb. Launer in Waldenburg i./Wrttbg. geboren.

Nach Absolvierung des Realgymnasiums in Schw.-Hall und Heilbronn a./N. widmete er sich im Frühjahr 1926 dem Studium der Medizin zuerst an den Universitäten Tübingen und Leipzig, wo er im Frühjahr 1928 nach dem 4. Studiensemester die ärztliche Vorprüfung ablegte. Die klinischen Semester wurden an den Universitäten Bonn und Berlin absolviert und fanden mit dem Staatsexamen im Juli 1931 ihren Abschluß in Berlin. Während der Monate Juli und August 1931 war Unterzeichneter im Diakonissenhause Leipzig auf der chir. Station bei Herrn Prof. Sick tätig, von September 1931 bis einschließlich Juni 1932 arbeitete er in der I. Med. Klinik der Charité auf Station F, wo er weiter ab 15. Juli 1932 als Volontär-Assistent tätig war. Ab 1. 8. 1933 war Unterzeichneter Assistent der I. Med. Kl. der Charité.

Wolfgang Zündel.